动 物 学 研 究 2011，Feb. 32(1): 50−55 CN 53-1040/Q ISSN 0254-5853
Zoological Research DOI：10.3724/SP.J.1141.2011.01050

# 六个肥胖相关基因在食蟹猴 2 型糖尿病不同发病时期的差异表达

靳丽莎[1,3], 郝香芬[2], 彭白露[2], 张艳春[2], 万玉玲[2], 季 芳[2], 夏机良[2], 刘晓明[2,*]

(1. 中国科学院华南植物园, 广东 广州 510650; 2. 广东省昆虫研究所, 广东 广州 510260; 3. 中国科学院研究生院, 北京 100049)

**摘要**：2 型糖尿病(T2DM)是一种与基因密切相关的高发性代谢性疾病。采用高脂饮食 (其中含 15%猪油)喂养 25 只中老年雄性食蟹猴的方法, 制备 T2DM 模型, 通过检测血糖与血脂水平确定疾病发展进程, 并利用实时 PCR 对外周血白细胞中的 6 个肥胖相关基因 mRNA 表达量进行测定。食蟹猴 T2DM 在临床前期和临床期口服糖耐量实验(OGTT)2-h 血糖值分别为(11.06±6.05) mmol/L 和(13.12±2.89) mmol/L, 显著高于正常组; 空腹血糖在临床期达到最大值, 为(7.58±1.56) mmol/L($P$<0.01), 说明其 T2DM 模型被成功诱导。但所检测的 6 个糖尿病肥胖相关基因中只有 C*DKN2B*、*IGF2BP2* 和 *FTO* mRNA 表达量与糖尿病发病进程呈正相关, 且临床期 *IGF2BP2* 和 *FTO* 的表达量分别是对照组的 65.92 倍和 4.30 倍, 差异极显著($P$<0.01)。因此, 基因 C*DKN2B*、*IGF2BP2* 和 *FTO* 可作为食蟹猴糖尿病早期诊断及预后评价的参考指标。

**关键词**：食蟹猴; 2 型糖尿病; 肥胖相关基因; 基因表达
**中图分类号**：R587.1; Q959.848; R-332 **文献标志码**：A **文章编号**：0254-5853-(2011)01-0000-06

# Differential expression of six obesity-related genes with different disease phases of T2DM in cynomolgus monkey

JIN Li-Sha[1,3], HAO Xiang-Fen[2], PENG Bai-Lu[2], ZHANG Yan-Chun[2], WAN Yu-Ling[2], JI Fang[2], XIA Ji-Liang[2], LIU Xiao-Ming[2,*]

(1. *South China Botanical Garden*, *Guangzhou* 510650, *China*; 2. *Entomological Institute*, *Guangzhou* 510260, *China*; 3. *Graduate University of the Chinese Academy of Sciences, Beijing* 100049, *China*)

**Abstract:** Type 2 diabetes mellitus (T2DM) is a metabolic disease with a strong genetic component that is very prevalent in the world. The aim of this study is to investigate the association of a set of six obesity-related genes with the different disease phases of T2DM in a model using middle or aged cynomogus monkeys. A total of 25 male monkeys were used and fed with high-fat diet (15% lard). The disease development and progression of T2DM were monitored through the levels of plasma glucose and lipid. The mRNA expression of 6 genes was evaluated using real-time PCR on monocyte isolated from monkey peripheral blood. The 2-hour plasma glucose levels followed oral glucose tolerance test (OGTT) were (11.06±6.05) mmol/L and (13.12±2.89) mmol/L respectively ($P$<0.01), and the fasting plasma glucose level was (7.58±1.56) mmol/L (vs controls, $P$<0.01), indicating that we developed successful the models of pre-diabetic and diabetic disease in the cynomolgus monkey. Of the six tested genes, *CDKN2B*, *IGF2BP*2, and *FTO* genes were significantly up-regulated with disease progression in T2DM. We found that the expression of *IGF2BP*2 and *FTO* increased 65.92 and 4.30 folds in the developed T2DM. We conclude that the genes of *CDKN2B*, *IGF2BP*2, and *FTO* can be used as early diagnostic and prognostic biomarkers in type 2 diabetes.

**Key words:** Cynomolgus monkey; Type 2 diabetes; Obesity-related genes; Gene expression

2 型糖尿病是一种以高血糖为主要标志的具有多病因的复杂和异质的代谢性疾病, 发病的主要原

收稿日期：2010-12-16; 接受日期：2011-01-19
基金项目：广州市科技计划项目大型实验动物国际认证及外包服务(2009A1-E051); 广东省林业局项目实验猴繁育关键技术研究及产业示范(2009KJCX016); “重大新药创制”科技重大专项“十二五”计划：人类重大疾病灵长类动物模型资源平台的建设(2011ZX09307-303-03)
[*]通讯作者(Corresponding author), E-mail: xemoonliu@hotmail.com
第一作者简介：靳丽莎(1986−), 女, 研究方向：生物功能基因利用; E-mail: jinlisha123456@163.com

因是胰岛素抵抗或胰岛素分泌相对不足，同时肥胖也是主要危险因素。随着人们生活水平的提高，糖尿病的发病率呈逐年上升的趋势，患者年轻化。Yang et al (2010)对中国46 239个成年人糖尿病调查结果表明，中国糖尿病发病率高达 9.7%，糖尿病前期的患病率达 15.5%，据估算：中国现有糖尿病患者已达 9240 万例，居全球之首。国际糖尿病联盟统计，目前全球有糖尿病患者 2.33 亿，而且正以每年新发 700 万患者的速度猛涨。因此，鉴于糖尿病的高发病率、高度危害性和高并发症，利用高脂食物饲喂，制备类人 T2DM 食蟹猴模型显得尤为重要。此外，Yang et al (2010)的调查还显示有糖尿病但未诊断出来的患者约为 57%，糖尿病前期的患病率已经高过糖尿病患病率（高 5.8%），即现有的糖尿病诊断标准很难准确并全面筛查出糖尿病前期患者。因此，急需一种简便、可操作的标准应用于风险预警和早期诊断。一些糖尿病相关基因的表达在糖尿病症状明显出现前就可能已经发生改变，不同糖尿病相关基因的 mRNA 水平在发病不同时期很可能具有差异性表达，其表达水平的变化可以作为早期诊断的一个特征指标。

近年来，随着候选基因技术的不断完善，尤其是全基因组相关性分析(GWAS)及 SNP 技术的发展，已鉴定出多种糖尿病易感基因，如 *CDKN2B*, *CDKAL1*, *IGF2BP2* 和 *FTO* (Sladek et al, 2007; Zeggini et al, 2007; Scott et al, 2007; McCarthy & Zeggini, 2009; Steinthorsdottir et al, 2007)。其中，*CDKN2B* 位于 9 号染色体上，编码肿瘤抑制因子 p16INK4a，通过 cyclin D 抑制 CDK4 的活性，调节细胞周期，影响胰岛细胞的增殖与再生 (Duesing et al, 2008)。相反，*CDKAL1* 主要通过使一相胰岛素释放受损，从而增加糖尿病风险，但与胰岛素敏感性无关(Alena et al, 2008)。而肥胖基因 *FTO* 编码 2-酮戊二酸依赖性核酸去甲基化酶，其在下丘脑、脂肪组织中均有表达，且受进食状态的调节，但其参与的生物学途径尚不清楚(Frayling et al, 2007; Dina et al, 2007)，而且其与肥胖、BMI 相关联，主要表现为体重、腰围、脂肪重及空腹血清瘦素水平的增加，它的变异体可以增加脂肪的沉积，降低全身胰岛素敏感性，从而导致糖尿病(Camilla et al, 2008; Freathy et al, 2008)。*IGF2BP2*(胰岛素样生长因子 2mRNA 结合蛋白 2)调节 *IGF2* 的翻译，其在胎盘与胎儿发育中具有重要作用，在胎儿中与营养不良共同作用，影响糖代谢，与 T2DM 有关(Rong et al, 2009; Van et al, 2009)。*SOX4* 参与胰腺的发育和胰岛素分泌的调节，而 *IRX3* 则通过调节胰岛素分泌 β 细胞和胰高血糖素生成 ε 细胞的数目，直接影响肥胖与 T2DM (Ragvin et al, 2010)。因此，认为转录因子 *SOX4* 和 *IRX3* 与胰腺发育有关，可以调节胰岛素的分泌。为了了解这些肥胖相关基因的表达量与 T2DM 发病进程的相关性，本研究通过对糖尿病发病不同时期 6 个肥胖基因的 mRNA 表达量进行分析，从而为糖尿病风险预警和早期诊断提供指导。

## 1　材料及方法

### 1.1　实验材料

25 只食蟹猴由华南灵长类研究开发中心提供，年龄均大于 9 岁，采用单笼喂养，饲养温度 16～29℃，相对湿度 50%～80%。实验试剂：盐酸氯胺酮购自沈阳兽药厂，血糖试纸、血糖仪由强生公司提供，Trizol 试剂购自 Invitrogen 公司，SYBR® Green 染料及 SYBR® Premix Ex TaqTM 购自 TaKaRa 公司，EasyScript First-Strand cDNA Synthesis SuperMix 由 TransGen Biotech 公司提供，引物由上海生工生物工程公司合成，红细胞裂解液自行配制(1.6 mmol/L EDTA, 10 mmol/L $KHCO_3$, 153 mmol/L $NH_4C1$, pH7.4) (Ma et al, 2007)。

### 1.2　实验方法

#### 1.2.1　实验猴分组

参考 WHO 诊断标准，并根据所得基础血液生化指标、口服糖耐量(OGTT)实验以及尿检结果将糖尿病模型进程划分为 4 个时期 (表 1)，除对照组为普通膳食外，其余各组为高脂饮食(其中含 15%猪油)，喂养时间为 18 个月。

#### 1.2.2　体况指标及血清生化指标测定

食蟹猴禁食 12～14 h 后，用盐酸氯胺酮按 10 mg/kg 体重剂量进行麻醉，用电子秤称量体重，米尺测量坐高、腹围和矢状腹围(平躺状态下，腹部最高处到背部水平面的垂直距离)。从后肢采取 3 mL 静脉血，置于干净管中，室温下，静置30 min, 3 220 ×g，水平离心 15 min，吸取上清，酶法测定 GLU、CHO (胆固醇)、TG(甘油三酯)、HDL-C(高密度脂蛋白)、LDL-C(低密度脂蛋白)。

#### 1.2.3　OGTT 实验

实验猴禁食12～14 h 后，按4 g/kg体重葡萄糖进行灌胃，用便携式血糖仪分别测定 0、30、60、

表 1 食蟹猴糖尿病模型不同时期定义标准

Tab. 1 The standard definition with the different disease phases of T2DM model in the cynomolgus monkey

| 时期 Phase | 实验猴数目 (只) The number of Monkey | 临床指标 Clinical indicators | | |
|---|---|---|---|---|
| | | 空腹血糖 FPG (mmol/L) Fasting glucose | 糖耐量情况 Glucose tolerance | 尿糖 Urine glucose |
| 对照 Control group | 5 | FPG<3.96 | 正常 | 阴性 |
| 模型初期 Initial phase | 5 | FPG<3.96 | 正常 | 阴性 |
| 模型中期 Metaphase | 5 | 3.96< FPG< 5.7 | 空腹血糖受损(IFG) | 阴性 |
| 临床前期 Preclinical phase | 5 | FPG< 5.7 | 糖耐量异常(IGT) | 1+或 2+ |
| 临床期 Clinical phase | 5 | FPG≥5.7 且持续存在 | 糖耐量异常(IGT) | 3+ |

90、120 min 血糖值, 并在 0、120 min 采取 0.5 mL 血液, 用猴胰岛素酶联免疫分析试剂盒测定胰岛素, 并根据实验结果计算血糖代谢指数, 其中 HOMA-IR = FPG × FINS/22.5; Si=1/(FPG×FINS); 空腹β细胞功能指数=FINS/FPG。

1.2.4 外周血白细胞总 RNA 提取及其 cDNA 制备

食蟹猴禁食 12～14 h 后, 从股静脉取血 5 mL, 将其与 25 mL 红细胞裂解液混匀, 冰上放置 30 min, 期间多次上下温和颠倒混匀, 随后离心收集白细胞。然后使用 Trizol (Invitrogen)提取外周血白细胞总 RNA (Puissant & Houdebine, 1990), 用 EasyScript First-Strand cDNA Synthesis SuperMix (TransGen Biotech)将约 0.5 μg RNA 反转录为 cDNA, 所得 cDNA 于–20 ℃保存备用。

1.2.5 糖尿病 PCR 引物设计及荧光定量 PCR

设计了 6 个肥胖基因人猴通用的引物序列, 并以 GAPDH 和 YWHAZ 为内参(Sluimer et al, 2007), 所有肥胖相关基因和内参的 PCR 产物长度均在 180～250 bp 之间。用 SYBR Green 染料 (TaKaRa) 对 6 个基因进行荧光定量 PCR 分析, 反应体系为 20 μL: 10 μL SYBR® Premix Ex Taq$^{TM}$ (×2), 0.4 μL PCR 正向、反向引物(10 μmmol/L), 2 μL cDNA 模板(100 ng), 7.2 μLdd$H_2O$。荧光定量 PCR 步骤: (1) 预变性 95℃, 30 s; (2) PCR 反应 95℃, 5 s; 60℃, 34 s, 共 40 个循环; (3) 融解曲线分析: 95℃, 15 min; 60℃, 1 h; 95℃, 15 min。

1.2.6 数据处理和分析

去除无信号、融解曲线差、CT<8 或 CT>35 及 ΔCT >13 的反应, 对荧光定量 PCR 结果进行初步分析, 并采用 $2^{-\triangle\triangle CT}$ 法计算各基因相对于对照食蟹猴中相应基因的表达量 (Livak & Schmittgen, 2001), 用 ANOVA 法比较正常、模型进程不同时期食蟹猴糖尿病肥胖相关基因的表达差异。而正常对照组基因的相对表达量是以自身组内的相应基因为参考, 内参基因的表达量是相对于另一个内参进行比对。

## 2 结 果

### 2.1 体况与代谢特征指标与糖尿病各时期的比较

食蟹猴 T2DM 发病不同时期体况与血清生化指标的比较如表 2 所示: 与对照组相比, 体重和腰围除模型中期外, 在其他时期都有不同程度地增加, 而矢状腹围与 BMI 在发病各时期变化不大; 血清脂质中 TG 和 HDL 变化不显著, CHO 与 LDL 在模型中期及临床期差异显著($P$<0.05), 且 LDL 在模型中期、临床前期及临床期的含量分别增长了 14.62、11.83 和 11.69 倍; FPG 在临床期达到最大值, 为(7.58±1.56) mmol/L, OGTT 2 h 血糖在临床前期和临床期分别为(11.06±6.05) mmol/L 和(13.12±2.89) mmol/L, 显著高于初始值($P$<0.01); 胰岛素含量在模型中期与临床前期含量升高, 临床期含量反而降低。胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)与糖尿病发病进程呈正相关, 在临床期达到最大值; 而胰岛素敏感指数 Si 和空腹β细胞功能指数则相反, 在临床期最低, 分别为 0.0026 和 7.42($P$<0.01)。

### 2.2 食蟹猴外周血白细胞中糖尿病肥胖相关基因 mRNA 表达差异

食蟹猴 T2DM 发病不同时期外周血白细胞中肥胖相关基因 mRNA 表达量如表 3 所示: *CDKN2B*、*IGF2BP2* 和 *FTO* 表达量随疾病的发生发展而上调, 在临床期达到最大值, 其中, *IGF2BP2* 和 *FTO* 的表达量分别是对照组的 65.92 和 4.30 倍, 差异极显著($P$<0.01)。*IRX3* 和 *SOX4* 在对照样本中的相对表达量较低, 其 CT 值分别为(36.07±0.98)和(35.50 ± 0.18), 而 *GAPDH* CT 值为(22.48±4.67)。因此, 相对于表达量很高的阳性对照而言, 其基因表达量很低; 但在疾病发病进程中的各个时期得到有效表

**表 2　食蟹猴 T2DM 发病不同时期体况与血清生化指标比较**

**Tab. 2　Anthropometrics and metabolic characteristics with the different disease phases of T2DM in the cynomolgus monkey**

| 测定项目<br>Measurement items | 时期 Phase<br>对照<br>Control group | <br>模型初期<br>Initial phase | <br>模型中期<br>Metaphase | <br>临床前期<br>Preclinical phase | <br>临床期<br>Clinical phase |
|---|---|---|---|---|---|
| 体况指标 Anthropometric | | | | | |
| 体重 Body weight (kg) | 7.29±1.02 | 10.18±1.95** | 06.55±1.93 | 07.65±2.08 | 09.12±2.70* |
| 腰围 Waist circumference (cm) | 37.80±3.83 | 48.30±5.95** | 39.70±5.29 | 40.40±7.96* | 42.70±9.44** |
| 矢状腹围<br>Sagittal Abdominal circumference (cm) | 9.90±1.14 | 11.80±1.30 | 10.40±1.14 | 09.90±1.78 | 11.90±2.48 |
| 体重质量指数 BMI (kg/$m^2$) | 39.75±4.83 | 42.41±13.24 | 42.24±5.38 | 49.61±17.41 | 49.78±11.51 |
| 血清脂质水平 Fasting serum lipids (mmol/L) | | | | | |
| 甘油三酯 TG | 1.20±0.68 | 00.79±0.23 | 01.27±0.68 | 01.16±0.69 | 00.79±0.40 |
| 胆固醇 CHO | 2.07±0.35 | 04.14±0.59 | 10.57±5.21* | 08.36±5.41 | 10.79±5.62* |
| 高密度脂蛋白 HDL | 1.13±0.17 | 01.55±0.73 | 01.80±0.40 | 01.94±0.90 | 01.88±0.62 |
| 低密度脂蛋白 LDL | 0.78±0.27 | 01.38±1.36 | 12.19±7.08* | 10.01±8.65* | 09.90±7.42* |
| 血糖 Plasma glucose (mmol/L) | | | | | |
| 空腹血糖 Fasting glucose | 3.46±0.32 | 03.66±0.21 | 04.78±0.58* | 04.12±0.67 | 07.58±1.56** |
| 糖耐量 2 h 血糖<br>2 h plasma glucose followed OGTT | 3.36±0.36 | 03.71±0.23 | 03.68±0.55 | 11.06±6.05** | 13.12±2.89** |
| 胰岛素 Serum insulin (pmol/L) | | | | | |
| 空腹胰岛素 Fasting insulin | 59.27±4.27 | 62.12±5.18 | 78.28±5.16** | 70.72±7.26** | 54.86±9.78 |
| 血糖代谢指数 Derived indices | | | | | |
| 胰岛素抵抗指数 HOMA-IR | 9.10±0.93 | 10.13±1.28 | 16.58±1.69** | 14.19±1.55** | 18.74±6.92** |
| 胰岛素敏感指数 (Si, $\times10^{-2}$) | 0.49±0.06 | 00.41±0.09* | 00.27±0.03** | 00.32±0.04** | 00.26±0.07** |
| 空腹 β 细胞功能指数 FBCI | 17.26±2.27 | 16.98±1.24 | 16.61±2.61 | 15.71±2.13 | 07.42±1.67** |

数据以平均值±标准误表示; *, **分别表示差异显著和极显著。

Values are means±*SE*; the * and ** over bars indicate significantly different with $P<0.05$ and $P<0.01$, respectively.

**表 3　食蟹猴 T2DM 不同发病时期 6 个肥胖基因的相对表达量**

**Tab. 3　The relative expression of six obesity-related genes with the different disease phases of T2DM in the cynomolgus monkey**

| 基因符号<br>Symbol | 基因名称<br>Gene name | 时期(Phase)<br>对照<br>Control group | <br>模型初期<br>Initial phase | <br>模型中期<br>Metaphase | <br>临床前期<br>Preclinical phase | <br>临床期<br>Clinical phase |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 肥胖基因 Obesity associated gene | | | | | | |
| *CDKAL1* | Cyclin-dependent kinase 5 regulatory subunit associated protein 1-like 1 | 1.40±0.48 | N/A | N/A | 0.21 | N/A |
| *CDKN2B* | Cyclin-dependent kinase 4 inhibitor B | 1.03±0.29 | 03.04±0.83 | 04.33±0.34 | 05.08±1.66* | 05.78±3.52* |
| *IGF2BP2* | Insulin-like growth factor 2 mrnabinding protein 2 | 1.25±0.59 | 13.58±0.04* | 32.87±8.89** | 61.02±9.25** | 65.92±4.39** |
| *FTO* | Fat mass and obesity associated gene | 0.26±0.04 | 0.62±0.05 | 02.08±0.86* | 04.15±1.54** | 04.30±0.78** |
| *IRX3* | Iroquois homeobox | N/A | 1.40 | 0.71 | 1.00 | 00.64±0.24 |
| *SOX4* | SRY-related high mobility group-box 4 | N/A | 2.21 | 1.75 | 1.00 | 00.86±0.03 |
| 内参基因 Positive control | | | | | | |
| *GAPDH* | Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase | 1.13±0.47 | 00.99±0.16 | 00.94±0.11 | 00.98±0.13 | 00.96±0.12 |
| *YWHAZ* | Phospholipase A2 | 1.34±0.89 | 00.99±0.74 | 01.36±0.48 | 01.33±0.84 | 01.39±0.78 |

mRNA 表达量以平均值±标准误表示; *,** 分别表示差异显著和极显著; N/A 即无效的, 表示相对于对照来说表达量较低。

Values are means±*SE*; the * and ** over bars indicate significantly different with $P<0.05$ and $P<0.01$, respectively. N/A, that is not available, indicates low expression compared with the control group.

达，以临床前期样本基因表达量作为基准进行分析，两个基因表达量变化均不明显。*CDKAL1* 只在对照组和临床前期有效表达，而在模型的其他时期相对表达量较低。内参基因 *GAPDH* 和 *YWHAZ* 的相对表达量应该是 1，但由于存在个体差异，因此表达量有一定的偏差。

## 3 讨 论

根据群体圈养雄性食蟹猴基础血糖值为(3.32±0.59) mmol/L(Hao et al, 2010)；猕猴正常 FPG<4.4 mmol/L，糖尿病 FPG≥5.6 mmol/L(LeRoith et al, 2004)；并参考目前 WHO 对人的糖尿病最新诊断标准，结合本实验结果(对照组及模型初期食蟹猴平均血糖值为 2.96 mmol/L，且最大值为 3.96 mmol/L，而对出现胰岛素抵抗，持续高血糖，尿糖 3+的食蟹猴血糖值统计结果表明：FPG≥5.7 mmol/L)界定了中老年雄性食蟹猴 T2DM 模型各时期 FPG 标准，即 FPG<3.96 mmol/L 定义为对照及糖尿病模型初期；FPG≥5.7 mmol/L 为临床期；FPG 介于对照与临床期之间，且糖耐量正常的为模型中期；由于糖耐量异常时血糖值低于或高于正常。因此，将 FPG<5.7 mmol/L，其糖耐量异常的定义为临床前期。

食蟹猴腰围和体重在 T2DM 模型初期比其他时期偏高，这可能是由于食蟹猴从群养到单笼喂养缺少运动造成的。此外，FPG、CHO、LDL 和 HOMA-IR 升高，Si 和空腹 β 细胞功能指数降低，表明在糖尿病发病进程中发生了胰岛素抵抗和糖耐量异常，进而导致糖尿病。有研究认为，T2DM 患者与正常人相比，体内 β 细胞数量减少(Butler et al, 2003; Yoon et al, 2003)，胰岛素分泌量减少，临床期胰岛素含量低于正常也正说明了这一点。据此，认为食蟹猴 T2DM 模型被成功诱导。

Krishnamurthy et al (2006)研究发现，p16$^{INK4a}$ 表达量随年龄的增长而增加，其限制了 β 细胞的再生，从而可以诱发胰岛素抵抗。Church et al (2010)报道，*FTO* 过量表达导致小鼠肥胖的主要原因是增加了其对食物的摄取量。本研究结果显示，与对照样本相比，*CDKN2B* 和 *FTO* 在发病进程中 mRNA 表达量上调，特别是临床前期和临床期存在显著差异，这两个基因可能通过影响 β 细胞的功能及胰岛素敏感性来增加患病风险。*IGF2BP2* 的表达量在建模初期就出现明显增高，并随病程的发展进一步提高；而 *IRX3*、*SOX4* 和 *CDKAL1* 在糖尿病发病的某些时期相对表达量较低，其与食蟹猴糖尿病的相关性还有待进一步证实。综合以上结果，三个肥胖相关基因 C*DKN2B*、*IGF2BP*2 和 *FTO* 与糖尿病具有明显的相关性，因此可作为食蟹猴糖尿病早期诊断及预后评价的参考指标。

**参考文献：**

Butler AE, Janson J, Bonner-Weir S, Ritzel R, Rizza RA, Butler PC, 2003. β-cell deficit and increased β-cell apoptosis in humans with type 2 diabetes [J]. Diabetes, **52**: 102-110.

Church C, Moir L, McMurray F, Girard C, Banks GT, Teboul L, Wells S, Brüning JC, Nolan PM, Ashcroft FM, Cox RD, 2010. Over expression of *FTO* leads to increased food intake and results in obesity [J]. *Nat Genet*, **42**: 1086-1092.

Dina C, Meyre D, Gallina S, Durand E, Körner A, Jacobson P, Carlsson LM, Kiess W, Vatin V, Lecoeur C, Delplanque J, Vaillant E, Pattou F, Ruiz J, Weill J, Levy-Marchal C, Horber F, Potoczna N, Hercberg S, Le Stunff C, Bougnères P, Kovacs P, Marre M, Balkau B, Cauchi S, Chèvre JC, Froguel P, 2007. Variation in *FTO* contributes to childhood obesity and severe adult obesity [J]. *Nat Genet*, **39**: 724-726.

Duesing K, Fatemifar G, Charpentier G, Marre M, Tichet J, Hercberg S, Balkau B, Froguel P, Gibson F, 2008. Strong association of common variants in the *CDKN2A/CDKN2B* region with type 2 diabetes in French Europids [J]. *Diabetologia*, **51**: 821-826.

Frayling TM, Timpson NJ, Weedon MN, Zeggini E, Freathy RM, Lindgren CM, Perry JR, Elliott KS, Lango H, Rayner NW, Shields B, Harries LW, Barrett JC, Ellard S, Groves CJ, Knight B, Patch AM, Ness AR, Ebrahim S, Lawlor DA, Ring SM, Ben-Shlomo Y, Jarvelin MR, Sovio U, Bennett AJ, Melzer D, Ferrucci L, Loos RJ, Barroso I, Wareham NJ, Karpe F, Owen KR, Cardon LR, Walker M, Hitman GA, Palmer CN, Doney AS, Morris AD, Smith GD, Hattersley AT, McCarthy MI, 2007. A common variant in the *FTO* gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity [J]. *Science*, **316**: 889-894.

Freathy RM, Timpson NJ, Lawlor DA, Pouta A, Ben-Shlomo Y, Ruokonen A, Ebrahim S, Shields B, Zeggini E, Weedon MN, Lindgren CM, Lango H, Melzer D, Ferrucci L, Paolisso G, Neville MJ, Karpe F, Palmer CN, Morris AD, Elliott P, Jarvelin MR, Smith GD, McCarthy MI, Hattersley AT, Frayling TM, 2008. Common variation in the *FTO* gene alters diabetes-related metabolic traits to the extent expected given its effect on BMI [J]. *Diabetes*, **57**: 1419-1426.

Hao XF, Wan YL, Li XJ, Ji F, Peng BL, Rao JH, Liu XM, 2010. The investigation of the basal glucose in cynomolgus[J]. *Sichuan J Zool*, **30**(1): 111-114.[郝香芬，万玉玲，李学家，季芳，彭白露，饶军华，刘晓明，2011. 食蟹猴的基础血糖值调查. 四川动物，**30**(1): 111-114.]

Krishnamurthy J, Ramsey MR, Ligon KL, Torrice C, Koh A, Bonner-Weir S, Sharpless NE, 2006. p16INK4a induces an age-dependent decline in islet regenerative potential [J]. *Nature*, **443**: 453-457.

LeRoith D, Olefsky JM, Taylor SI, 2004. Diabetes Mellitus: A Fundamental and Clinical Text [M]. 3rd ed. USA: Lippincott Williams & Wilkins.

Livak KJ, Schmittgen TD, 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 22DDCT method [J]. *Methods*, 2**5**: 402-408.

Ma J, Dempsey AA, Stamatiou D, Marshall KW, Liew CC, 2007. Identifying leukocyte gene expression patterns associated with plasma lipid levels in human subjects [J]. *Atherosclerosis*, **191**(1): 63-72.

McCarthy MI, Zeggini E, 2009. Genome-wide association studies in type 2 diabetes [J]. *Curr Diab Rep*, **9**(2): 164-171.

Puissant C, Houdebine LM, 1990. An improvement of the single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction [J]. *Biotechniques*, **8**(2): 148-149

Ragvin A, Moro E, Fredman D, Navratilova P, Drivenes Ø, Engström PG, Alonso ME, de la Calle Mustienes E, Gómez Skarmeta JL, Tavares MJ, Casares F, Manzanares M, van Heyningen V, Molven A, Njølstad PR, Argenton F, Lenhard B, Becker TS, 2010. Long-range gene regulation links genomic type 2 diabetes and obesity risk regions to *HHEX*, *SOX4*, and *IRX3* [J]. *PNAS*, **107**(2): 775-780.

Rong R, Hanson RL, Ortiz D, Wiedrich C, Kobes S, Knowler WC, Bogardus C, Baier LJ, 2009. Association analysis of variation in/near FTO, *CDKAL*1,*SLC30A8, HHEX*, *EXT2*, *IGF2BP2*, loc387761, and *CDKN2B* with type 2 diabetes and related quantitative traits in pima indians [J]. *Diabetes*, **58**: 478-488.

Scott LJ, Mohlke KL, Bonnycastle LL, Willer CJ, Li Y, Duren WL, Erdos MR, Stringham HM, Chines PS, Jackson AU, Prokunina-Olsson L, Ding1 CJ, Swift AJ, Narisu N, Hu T, Pruim R, Xiao R, Li XY, Conneely KN, Riebow NL, Sprau AG, Tong M, White PP, Hetrick KN, Barnhart MW, Bark CW , Goldstein JL, Watkins J, Xiang F, Saramies J, Buchanan TA, Watanabe RM, Valle TT, Kinnunen L, Abecasis GR, Pugh EW, Doheny KF, Bergman RN, Tuomilehto J, Collins FS, Boehnke M, 2007. A genome-wide association study of type 2 diabetes in Finns detects multiple susceptibility variants [J]. *Science*, **316**(5829): 1341-1345.

Sladek R, Rocheleau G, Rung J, Dina C, Shen L, Serre D, Boutin P, Vincent D, Belisle A, Hadjadj S, 2007. A genome-wide association study identifies novel risk loci for type 2 diabetes [J]. *Nature*, **445**(7130): 881-885.

Sluimer JC, Kisters N, Cleutjens KB, Volger OL, Horrevoets AJ, van den Akker LH, Bijnens AP, Daemen MJ, 2007. Dead or alive: gene expression profiles of advanced atherosclerotic plaques from autopsy and surgery [J]. *Physiol Genomics*, **30**(3): 335-341.

Steinthorsdottir V, Thorleifsson G, Reynisdottir I, Benediktsson R, Jonsdottir T, Walters GB, Styrkarsdottir U, Gretarsdottir S, Emilsson V, Ghosh S, 2007. A variant in CDKAL1 influences insulin response and risk of type 2 diabetes [J]. *Nat Genet*, **39**(6): 770-775.

Van Hoek M, Langendonk JG, de Rooij SR, Sijbrands EJ, Roseboom TJ, 2009. Genetic variant in the *IGF2BP*2 gene may interact withfetal malnutrition to affect glucose metabolism [J]. *Diabetes*, **58**: 1440-1444.

Yang WY, Lu JM, Weng JP, Jia WP, Ji LN, Xiao JZ, Shan ZY, Liu J, Tian HM, Ji QH, Zhu DL, Ge JP, Lin LX, Chen H, Guo XG, Zhao ZG, Li QA, Zhou ZG, Shan GL, He J, 2010. Prevalence of diabetes among men and women in China [J]. *N Engl J Med*, **362**(25): 2425-2426.

Yoon KH, Ko SH, Cho JH, Lee JM, Ahn YB, Song KH, Yoo SJ, Kang MI, Cha BY, Lee KW, Son HY, Kang SK, Kim HS, Lee IK, Bonner-Weir S, 2003. Selective β-cell loss and α-cell expansion in patients with type 2 diabetes mellitus in Korea [J]. *Clin Endocrinol Metab*, **88**: 2300-2308.

Zeggini E, Weedon MN, Lindgren CM, Frayling TM, Elliott KS, Lango H, Timpson NJ, Perry JR, Rayner NW, Freathy RM, 2007. Replication of genome-wide association signals in UK samples reveals risk loci for type 2 diabetes [J]. *Science*, **316**(5829): 1336-1341.